



X6

JAN

## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets</b> 5 : C07K 7/06, 15/06, A61K 39/42 C07K 15/00, 7/08, A61K 37/02 A61K 39/21		A1	<b>(11) Numéro de publication internationale:</b> WO 94/03487 <b>(43) Date de publication internationale:</b> 17 février 1994 (17.02.94)
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR93/00803 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 10 août 1993 (10.08.93)		<b>(81) Etats désignés:</b> AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, JP, KP, KR, KZ, LK, LU, MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SI, UA, US, VN, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).	
<b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 92/09884 10 août 1992 (10.08.92) FR 93/01628 12 février 1993 (12.02.93) FR		<b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.            Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont requises.</i>	
<b>(71)(72) Déposant et inventeur:</b> ZAGURY, Jean-François [FR/FR]; 117, rue Vieille-du-Temple, F-75003 Paris (FR).			
<b>(74) Mandataire:</b> RINUY, SANTARELLI; 14, avenue de la Grande-Armée, F-75017 Paris (FR).			
<b>(54) Titre:</b> NEW PEPTIDES, ANTIBODIES RAISED AGAINST PEPTIDES AND MEANS FOR BLOCKING SAID ANTIBODIES, APPLICATION AS MEDICAMENTS, PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS AND UTILIZATION METHODS			
<b>(54) Titre:</b> NOUVEAUX PEPTIDES, ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE CES PEPTIDES ET MOYENS DE BLOCAGE DE CES ANTICORPS, APPLICATION À TITRE DE MEDICAMENTS, COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES ET MÉTHODES D'UTILISATION			
<b>(57) Abstract</b> <p>Monomer peptide recognized by a humoral or cellular immune response introducing an auto-immune reaction in subjects infected by HIV-1 or 2, characterized in that it is selected in the group comprised particularly of SLWDQ, SLWDQSLK and DI-ISLWDQSLK, and in that it has, if desired, on the N terminal and C terminal side, from 1 to 5 other amino acids in a peptidic chain, and its multimers in linear sequence comprising from 2 to 6 monomer units, peptide, modified protein or protein fragment containing said peptide, peptide adjacent to said peptide, antibody, antiidiotypic antibody, medicament containing them and methods for treating AIDS.</p>			
<b>(57) Abrégé</b> <p>Peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction auto-immune chez les sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué notamment par SLWDQ, SLWDQSLK, et DIISLWDQSLK et en ce qu'il comporte si désiré du côté N terminal et C terminal de 1 à 5 autres acides aminés en enchaînement peptidique, ainsi que ses multimers en séquence linéaire comportant de 2 à 6 unités monomères, peptide, fragment de protéine ou protéine modifiée renfermant ledit peptide, peptide adjacent à ce peptide, anticorps, anticorps anti-idiotypique médicament les renfermant et méthodes de lutte contre le SIDA.</p>			

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FR	France	MR	Mauritanie
AU	Australie	GA	Gabon	MW	Malawi
BB	Barbade	GB	Royaume-Uni	NE	Niger
BE	Belgique	GN	Guinée	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	NO	Norvège
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IR	Irlande	PL	Pologne
BR	Brésil	IT	Italie	PT	Portugal
BY	Bélarus	JP	Japan	RO	Roumanie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	RU	Fédération de Russie
CP	République Centrafricaine	KR	République de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SE	Suède
CH	Suisse	LJ	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	République slovaque
CM	Cameroon	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
CN	Chine	LV	Lettonie	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	MC	Monaco	TG	Togo
CZ	République tchèque	MG	Madagascar	UA	Ukraine
DE	Allemagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
DK	Danemark	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
ES	Espagne			VN	Viet Nam
FI	Finlande				

Nouveaux peptides, anticorps dirigés contre ces peptides et moyens de blocage de ces anticorps, application à titre de médicaments, compositions pharmaceutiques et méthodes d'utilisation.

5 La présente demande concerne de nouveaux peptides, des anticorps dirigés contre ces peptides et des moyens de blocage de ces anticorps, leur application à titre de médicaments, des compositions pharmaceutiques et des méthodes d'utilisation de ces produits.

10 On a identifié des séquences peptidiques partagées par le virus VIH-1 et des molécules autologues (du soi), et contre lesquelles existe une réaction immunitaire chez les individus infectés par le VIH-1. Cette réaction immunitaire est donc autoimmune car dirigée contre des épitopes du soi, 15 et permet d'expliquer le développement de la maladie et la dérèglement immunitaire observée au cours de l'infection par le VIH-1. La définition de ces peptides identifiés grâce à une stratégie informatique particulière permet le développement de stratégies prophylactiques et thérapeutiques contre 20 le SIDA qui sont l'objet principal de la présente demande.

Le système immunitaire se présente sous deux aspects fonctionnels : l'immunité non spécifique et l'immunité spécifique, dite encore à mémoire. L'immunité non spécifique consiste en une première ligne de défense, capable 25 d'arrêter la plupart des agents pathogènes avant que ne s'établisse une véritable infection. Les mécanismes de l'immunité spécifique entrent ensuite en action. Ils déclenchent une réaction dirigée spécifiquement contre le germe responsable, entraînant sa destruction. D'une manière 30 générale et schématique, il existe deux grands types de réponse immunitaire spécifique : la réponse de type humoral qui est caractérisée par la production d'anticorps par les lymphocytes B et la réponse immunitaire à médiation cellulaire qui met en jeu des cellules effectrices, c'est à dire 35 essentiellement les lymphocytes T8 (lymphocytes cytotoxiques). Ces réponses sont initialement activées par les

cellules présentatrices d'antigènes et modulées par les cellules régulatrices, c'est à dire les lymphocytes T4 (lymphocytes T auxiliaires) et les lymphocytes T suppresseurs.

5                   Dans ses très grandes lignes, la réponse immunitaire spécifique fonctionne comme suit:

- Les cellules présentatrices d'antigène appelées APC (monocytes, macrophages et lymphocytes B) capturent l'antigène, le digèrent et exposent des fragments de cet antigène 10 "digéré" à leur surface, en association avec des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I ou II. (CMH1 OU CMH2).
- Quand les lymphocytes T4 "voient" les fragments d'antigènes associés au complexe majeur d'histocompatibilité de 15 classe II, ils prolifèrent, passent sous forme activée (et notamment synthétisent de l'IL-2). Ce passage à l'état activé dépend essentiellement d'interactions moléculaires fines entre les 3 molécules CD4, CMH, et récepteurs des cellules T (TCR). Les lymphocytes T stimulent alors la prolifération 20 des lymphocytes B producteurs d'anticorps et celle des lymphocytes T8 (lymphocytes cytotoxiques ou CTL) grâce à des facteurs tels que IL2 ou IFN gamma, le tout étant régulé par d'autres facteurs tels que l'IFN alpha.
- Les lymphocytes B produisent des anticorps qui vont 25 interagir avec les antigènes circulants de manière à les neutraliser.
- Les lymphocytes T8 détruisent les cellules infectées quand ils reconnaissent les fragments d'antigènes associés au complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH1).

30                   Comme on le voit la réponse immunitaire est faite d'une cascade d'événements impliquant :

- des facteurs sécrétés comme par exemple les cytokines (interleukines, interférons, etc...) et leurs récepteurs membranaires,
- 35 - des molécules de surface des cellules servant à leurs interactions comme par exemple la molécule CD4 ou le CMH 1 ou

2 ou les adhésines (LFA 1, etc.).

- des molécules de surface des cellules servant à induire des signaux de régulation cellulaire soit par liaison avec des facteurs sécrétés comme les interleukines ou les interférons,  
5 soit par phénomènes de transduction induits par les molécules de surface précitées. Parmi ces dernières, on peut citer le groupement protéique CD3 lié au TCR (récepteur des cellules T) qui est nécessaire à l'activation des cellules T induite par un antigène, ou encore la protéine Fas qui est une  
10 molécule essentielle de la régulation immunitaire car elle induit la mort programmée des cellules.

Toutes les molécules ainsi décrites qui participent au fonctionnement et à la régulation du système immunitaire sont dénommées dans la présente demande molécules  
15 immunorégulatrices.

La réponse immunitaire standard à un agent microbien quelconque peut donc être schématiquement résumée comme suit: l'intervention de l'immunité non spécifique est quasi-immédiate puis, si besoin est, elle est suivie dans les  
20 48 à 72 heures de l'apparition de la réponse immunitaire spécifique. Une fois le pathogène évacué, il y a des mécanismes de régulation (comme par exemple la sécrétion d'interféron alpha, l'expression de la protéine Fas et son activation pour préparer la mort programmée) qui permettent de contrôler  
25 la prolifération des cellules du système immunitaire induite par l'agent pathogène. Toutefois, il existe des exceptions à ce schéma directeur, en particulier lorsque l'agent microbien est un virus.

En effet, les virus surtout les virus à enveloppe  
30 et en particulier les rétrovirus, ont pu au cours de leur évolution prélever des séquences d'ADN ou d'ARN de leur hôte, et les incorporer à leur propre information génétique. Dans le contexte des protéines virales notamment des protéines d'enveloppes exposées en surface, les séquences peptidiques  
35 correspondantes peuvent induire une réaction immunitaire auto-immune, et ainsi perturber le fonctionnement normal de

l'organisme. Dans le cas du virus VIH-1 on a identifié de telles séquences. Il existe notamment des similitudes multiples entre la molécule gp120/160 et des protéines immuno-régulatrices. Contrairement à l'idée établie ce n'est 5 pas le peptide au sein de la gp120/160 qui directement induit la pathogénèse chez le sujet infecté, mais c'est la réaction auto-immune dirigée contre ce peptide. En effet l'idée fausse d'une action directe du peptide au sein de la gp120/160 est établie à partir d'expériences *in vitro* où la concentration 10 de gp120/160 utilisée est très supérieure (d'un facteur 1000) à la concentration existant réellement chez le sujet infecté. Le système *in vitro* montrant un rôle toxique de l'enveloppe gp120/160 n'est donc pas physiologique. On a démontré la participation des sites de similitude à la pathogénèse 15 induite par le VIH-1, mais dans le cadre général d'une réaction auto-immune cellulaire et humorale, conduisant à une dérèglement immunitaire.

Dans la présente demande sont présentés les peptides nouveaux identifiés qui sont partagés par des 20 molécules immuno-régulatrices et le virus VIH-1, jouant un rôle dans la maladie SIDA de par la réaction auto-immune déclenchée contre eux lors de l'infection. On précisera dans ce qui suit l'originalité et la genèse de la découverte des sites peptidiques et leurs propriétés, les stratégies 25 prophylactiques et thérapeutiques à utiliser en conséquence dans le cadre du SIDA et d'autres applications directes, la mise en pratique de leur utilisation.

Lorsqu'on immunise des sujets séronégatifs contre les antigènes du VIH-1, il se produit une réponse immunitaire 30 cellulaire spécifique avec des cellules tueuses spécifiques. Lorsqu'on immunise de la même façon des sujets séropositifs à un stade relativement avancé, quel que soit le protocole d'immunisation, il est difficile, voire impossible de faire apparaître une immunité spécifique. Il y a donc une barrière 35 suppressive qui est installée chez les sujets infectés par le VIH-1. Pour comprendre la cause de cette barrière d'immuno-

suppression, on a recherché les sites viraux pouvant interférer avec le bon déroulement de la réaction immunitaire. Leur recherche a pu être réalisée notamment grâce à un logiciel particulier appelé Automat spécialement développé à 5 cet effet (Copyright JF Zagury).

Plusieurs sites partagés par le VIH-1 et des molécules immuno-régulatrices ont été identifiés, qui témoignent de l'existence d'une réaction auto-immune chez les sujets infectés:

10 - Identité entre la molécule CD4 et la protéine gp120 du virus VIH-1: SLWDQ (résidus 110-114 dans la souche LAI, résidus 60-64 dans le CD4) (IS 1). Ce peptide SLWDQ a de plus les propriétés remarquables suivantes:

15 - Il est très conservé dans toutes les souches virales connues.

20 - Il existe une réaction immunitaire très forte contre des peptides contenant ce site, à la fois humorale et cellulaire (proliférative et tueuse) chez les sujets infectés par le VIH-1 (Exemples 4 et 13). Il existe donc une réaction auto-immune dirigée contre ce site chez les sujets infectés par le VIH-1.

25 - De plus SLWDQ correspond à un site critique de la molécule CD4 pour l'activation des cellules T car des oligopeptides contenant SLWDQ, en concentration suffisante, inhibent (probablement par compétition avec l'interaction CD4-CMH2) l'activation des cellules T induite par l'anti-gène. Ce site peptidique a donc aussi pour application remarquable de pouvoir induire des états d'immuno-suppression ce qui est utile dans certains cas que nous détaillons plus 30 loin.

35 - Similitudes entre la molécule gp120 de VIH-1 et la protéine Fas inductrice d'apoptose: VEINCTRPNN : IS 22 (résidus 297-306 du VIH-1 souche LAI) et VEINCTRTQN : IS 23 (résidus 99-108 de la protéine Fas), FYCNST : IS 24 (résidus 388-393 du virus VIH-1 souche LAI) et FFCNST : IS 25 (résidus 117-122 de la protéine Fas). Ces peptides ont de plus les

propriétés remarquables suivantes:

- Ils sont très conservés parmi les souches connues de virus VIH-1 surtout les souches d'origine caucasiennes. Le seul pentapeptide INCTR : IS 52 est partagé de manière unique 5 entre Fas et VIH-1 et ce dans toute la banque MIPS.

- Il existe une réponse immunitaire cellulaire dirigée contre des peptides (SVEINCTRPNNNTRKSI et GGEFFYCNSTQL) contenant ces sites chez des sujets infectés par les VIH-1 (DF Nixon et al., AIDS, 1991, 5:1049-1059). On a donc 10 identifié d'autres éléments d'une réaction auto-immune chez les sujets infectés par le VIH-1.

- Ces sites peptidiques correspondent aux 2 seuls sites glycosylés de la molécule Fas et sont aussi potentiellement glycosylés dans le VIH-1. Cela explique que la réponse 15 humorale contre des peptides contenant ces séquences soit relativement faible chez les sujets séropositifs (contrairement à la réponse existant contre les peptides contenant SLWDQ) car dans la molécule native *in vivo* ces peptides sont associés à des sucres.

20 - Le virus VIH-2 possède de manière très conservée le site CNST et il partage avec la protéine Fas, et ce de manière unique dans la banque MIPS, l'identité CNSTV : IS 26 (résidus 445-449 dans gp110 de VIH-2, souche ROD).

25 - Similitude entre le récepteur (chaîne delta) au butyrate et la protéine pol du virus VIH-1: YVGSDLEI (résidus 355-362 de VIH-1 souche LAI) et YVGSNLEI (résidus 27-34) du récepteur Fc des IgE. Ce peptide a de plus les propriétés remarquables suivantes:

30 - Ce site peptidique est bien conservé parmi les différents isolats de VIH-1 connus.

- Il existe une réponse immunitaire cellulaire dirigée contre un peptide (NPDIVIYQYMDDLYVGSDLEIGQHR) contenant ce site chez des sujets infectés par les VIH-1 (DF Nixon et al., AIDS, 1991, 5:1049-1059). On a donc identifié un autre 35 élément d'une réaction auto-immune chez les sujets infectés

par le VIH-1.

- Similitudes entre la molécule d'adhésion des leucocytes ELAM-1 et la protéine pol du VIH-1: PLTEEA (résidus 461-466 du VIH-1 souche LAI, et 89-94 de ELAM-1), et QGQWTYQ (résidus 5 501-507 du VIH-1 souche LAI) avec QQQWTTQQ (résidus 350-356 de ELAM-1). Ces peptides ont de plus les propriétés remarquables suivantes:
  - Ils sont très conservés dans les isolats VIH-1 connus.
- 10 - Il existe une réponse immunitaire cellulaire dirigée contre des peptides (PLTEAAELELAENREILKEPVHGVY et EIQQKQQQQW-TYQIYQEPFKNLKTG) contenant ces sites chez des sujets infectés par les VIH-1 (DF Nixon et al., AIDS, 1991, 5:1049-1059). Nous avons donc identifié d'autres éléments d'une réaction 15 auto-immune chez les sujets infectés par le VIH-1.
- Similitude entre la protéine GAG (plus précisément le segment p6) du VIH-1 et la chaîne légère lambda des immuno-globulines: RSGVETTTPSQK (résidus 476-487 de GAG souche LAI) et RAGVETTTPSKQ (résidus 179-190 de la chaîne légère d'immuno-globuline). Ce peptide a de plus la propriété remarquable 20 suivante:
  - Ce site peptidique est bien conservé parmi les différents isolats de VIH-1 et se trouve dans la partie constante des chaînes légères. La réaction immunitaire face 25 à ce site chez les sujets infectés est en cours d'étude.
- Identité entre le récepteur Fc de forte affinité aux immunoglobulines de type E et la molécule gp160 du VIH-1: EALKYW (résidus 796-801 dans VIH-1 souche LAI, et résidus 150-155 dans le récepteur Fc). Ce peptide a de plus la 30 propriété remarquable suivante:
  - Ce site peptidique est bien conservé parmi les différents isolats de VIH-1 connus. La réaction immunitaire face à ce site chez les sujets infectés est en cours d'étude.

Les sites peptidiques du virus VIH-1 précités peuvent engendrer une réaction auto-immune qui contribue aux désordres immunitaires observés dans le SIDA. Les 2 molécules CD4 et Fas jouent certainement un rôle critique dans le 5 développement de la maladie. On a en effet purifié par colonne d'affinité, à partir de 2 pools de sérum de malades, des anticorps dirigés contre des peptides contenant SLWDQ qui se montrent très immuno-suppressifs (Exemple 5) et causent l'anergie des cellules CD4. Cette anergie contribue à la 10 dérégulation des cytokines observée lors de l'infection par le VIH-1 (notamment hyperproduction des interférons alpha et gamma). De plus l'existence de cellules tueuses anti-SLWDQ peut contribuer à la déletion des cellules CD4. On a aussi observé l'existence du phénomène de mort par apoptose dans 15 les PBLs de sujets malades, soumis à une activation antigénique *in vitro*. L'identification des similitudes surprenantes entre Fas et VIH-1 jette une lumière toute nouvelle sur ce phénomène: en effet les PBLs correspondent pour une bonne partie aux cellules mémoires du système immunitaire qui 20 circulent dans l'organisme. Leur mort induite par l'activation par l'antigène montrent qu'elles ont précédemment reçu un signal de mort, et une réponse immunitaire dirigée contre ces segments communs à Fas et à VIH-1 peut expliquer ce phénomène. En particulier les anticorps dirigés contre les 25 sites de glycosylation de Fas sus-cités pourraient agir comme le fait l'anticorps monoclonal APO-1 (Itoh et al., 1991, Cell, 66: 233-245) pour induire la mort programmée des cellules mémoire (dont la prolifération a cessé et qui ne sont donc pas allés au bout de leur différenciation apopto- 30 tique induite par lesdits anticorps) lors d'une activation ultérieure. Cliniquement, chez les malades atteints de SIDA il a été observé une relative absence de phénomènes allergiques: une réponse immunitaire dirigée contre le site identité avec le récepteur Fc des IgE peut expliquer cela 35 comme un phénomène de désensibilisation progressive. La réponse immunitaire dirigée contre l'adhésine ELAM-1 peut

expliquer des désordres pour le déroulement de la réponse face à des agents pathogènes. Le butyrate est un régulateur important de l'immunité et une réponse dirigée contre le récepteur au butyrate bloquant ou hyperactivant celui-ci peut 5 aussi contribuer aux dérèglements du système immunitaire. Enfin la présence de la similitude importante entre la chaîne légère lambda et le VIH-1 peut contribuer par l'existence d'anticorps dirigés contre ce site à la prolifération polyclonale des lymphocytes B observée dans le SIDA.

10 Il serait souhaitable de disposer d'armes efficaces pour lutter contre le développement du SIDA. C'est pourquoi la présente invention a pour objet un nouveau peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction auto-immune chez les 15 sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué par

SLWDQ (IS N°1)  
SLWDQSLK (IS N°51)  
DIIISLWDQSLK (IS N°3)  
20 HEDIISLWDQSLKPCVK (IS N°46)  
VEINCTR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>N (R<sup>1</sup>=T ou P, R<sup>2</sup>=N ou Q) (IS N°22 et 23)  
FR<sup>2</sup>CNST (R<sup>2</sup>=Y ou F) (IS N°24 et 25)  
YVGSR<sup>3</sup>LEI (R<sup>3</sup>= D OU N) (IS N°27 et 28)  
PLTEEA (IS N°29)  
25 QGQWTR<sup>4</sup>Q (R<sup>4</sup>=Y ou Q) (IS N°30 et 31)  
RR<sup>5</sup>GVETTPS (R<sup>5</sup>=S ou A) (IS N°48 et 49)  
EALKYW (IS N°34)  
CNSTV (IS N°26)  
EETAGVVSTN (IS N°50)  
30 VVSTNNIRNG (IS N°14)  
VEINCTR (IS N°37)  
INCTR (IS N°52)

et en ce qu'il comporte si désiré du côté N terminal et C terminal de 1 à 5 autres acides aminés en enchaînement 35 peptidique de préférence 1 à 4 et tout particulièrement 1 à

2 ou 1 à 3 acides aminés, ainsi que ses multimères en séquence linéaire comportant de 2 à 8 et de préférence 2 à 6 unités monomères. Le nombre total d'acides aminés de la séquence est de préférence supérieur ou égal à 10.

5 Le monomère d'origine provient de préférence du virus ou de la molécule immuno modulatrice.

Une fois le concept d'auto-immunité face à des sites précisément définis du virus précisé, il est possible de lutter contre cet aspect de la maladie en rendant l'organisme tolérant contre les sites en question. Cela peut se faire classiquement en injectant au sujet les peptides ci-dessus multimérisés par liaison par exemple au mPEG, ou par exemple par traitement au glutaraldehyde, ou encore par simple multimérisation de séquence. Le produit peut être 10 injecté dans un solvant adéquat ou même comme cela a été décrit par exemple dans de l'eau distillée en injection intra-musculaire ou par voie intra-nasale par petites instillations répétées. Ainsi des souris ont été rendues tolérantes contre le peptide DIISLWDQSLKPCVK en leur instillant pendant 5 jours consécutifs une dose de 1 microgramme de peptide dans 20 microlitres d'eau distillée. De manière générale les doses à utiliser sont à adapter au conditions de l'injection (sujet, mode, peptide), mais il est à remarquer que les doses utilisées sont en général inférieures aux doses 15 nécessaires aux immunisations conventionnelles. La tolérance ne dure pas de manière indéfinie et il est préférable de tester l'état immunitaire du sujet traité face à l'épitope considéré: en général il semble convenable de réitérer l'induction de la tolérance toutes les 6-8 semaines au moins 20 dans les premiers 8 mois du traitement. Le produit injecté peut-être un peptide (viral ou de la protéine d'origine notamment), un fragment de protéine (par exemple un fragment de la protéine virale contenant le site et préparée par génie génétique) ou une protéine entière (par exemple la protéine 25 gag produite dans des bactéries recombinantes) contenant les sites de similitude pré-cités, caractérisés en ce qu'ils

comportent de 4 à 1000, de préférence de 4 à 200 acides aminés, plus préférentiellement de 4 à 20 acides aminés, notamment 5 à 12 acides aminés ainsi que les dérivés les renfermant. La tolérance peut aussi être induite par injection de liposomes portant des molécules de CMH2 présentant un peptide contenant le site voulu. Pour améliorer l'effet de tolérance les polypeptides utilisés peuvent contenir les séquences voisines dans le virus ou dans la molécule d'origine (CD4, Fas, Récepteur Fc des IgE etc...) du site en question précité. Par exemple les séquences DIISLWDQDIISLWDQ ou DIISLWDQSLKDIISLWDQSLK constituent un dimère de la région virale contenant SLWDQ et peut être utilisée pour provoquer la tolérance ; il en est de même pour la séquence RADSRRLWD-QRADSRRLWDQ en provenance de la séquence du CD4. De manière générale toute tolérance induite contre les sites précités aide à éviter ou ralentir l'évolution de la maladie SIDA. L'usage de la gp120 toute entière est acceptable, à condition que cela soit sous la forme d'induction d'une tolérance. Cependant il n'est pas recommandé de l'utiliser car parmi les anticorps anti-gp120, dont beaucoup semblent efficaces pour neutraliser les particules virales, tous ne sont pas toxiques sur le plan de l'auto-immunité et il est dommage d'en priver l'organisme. De même l'usage de la molécule CD4 entière pour induire la tolérance est intéressant. Cette molécule CD4 a été préparée sous forme soluble qui permet de l'utiliser facilement.

La tolérance peut également s'obtenir par injection de liposomes portant des molécules CMH de classe II présentant le peptide contre lequel l'organisme doit être rendu tolérant. Pour de meilleurs résultats, il peut être intéressant de multimériser le peptide (par exemple utiliser SLWDQ sous forme de di ou tétramère SLWDQSLWDQ ou SLWDQSLWDQ-SLWDQSLWDQ. Ce dernier peptide est intéressant car il est suppressif de l'activation des cellules T et il est aussi reconnu par les anticorps des malades infectés par le VIH-1.

La présente demande a de manière générale pour

objet tout moyen capable d'empêcher l'obtention d'une réponse immunitaire contre les segments des protéines rétrovirales de VIH-1 et VIH-2, qui présentent une similitude avec des molécules immuno-régulatrices. En particulier les protéines 5 précitées CD4, Fas, récepteur aux IgE, récepteur au butyrate, chaîne légère d'immunoglobuline lambda, ELAM-1.

La tolérance peut également s'obtenir:

- chez le nouveau né en injectant de manière à produire la tolérance de celui-ci à des protéines virales (VIH-1 ou VIH-10 2) entières ou des fragments de ces protéines, ou plus spécifiquement des peptides contre lesquels on veut induire la tolérance comme ceux précédemment décrits.

On en déduit de ce qui précède qu'il faut éviter la présence des sites précédemment mentionnés dans toute 15 composition vaccinale. Cela peut être fait en utilisant des produits vaccinants (peptides, protéines, ADNs) où les sites en question (en particulier Fas ou CD4) ont été supprimés ou modifiés. Ainsi on a montré que le site SLVDQ n'est pas source d'auto-immunité chez les sujets infectés. Il semble 20 que le tryptophane joue un rôle clé dans ce processus auto-immun (comme il joue un rôle déterminant dans l'activation des cellules T), et donc toute modification du tryptophane (W) en particulier doit être intéressante. Aussi une réponse dirigée 25 contre les zones voisines de ces sites devrait permettre de les neutraliser: par exemple immuniser contre le peptide HEDII (gp120 105-109) ou SLKPCVK (gp120 115-121) ou HEDIISL (gp120 105-11) qui chevauche partiellement SLWDQ.

Beaucoup d'essais de vaccination ont actuellement 30 lieu avec l'enveloppe gp160 entière du virus. Il semble y avoir un réel danger d'auto-immunité induit par de telles immunisations. La présente demande a donc aussi pour objet des molécules d'enveloppe gp160 mutées, additionnées ou déletées d'un ou plusieurs (par exemple 1, 2 ou 3) acides aminés au niveau des sites CD4 et Fas:

35 -par exemple SLWDQ peut être transformé en SLVDQ, VEINCTR peut être transformé en VEIDCSR, et FYCNST en FYCDSS. Toute

modification d'acide(s) aminé(s) évitant une réponse auto-immune est suffisante. Dans le cas de Fas, il est possible que les sites NXT soient une clé majeure dans le phénomène auto-immun car la glycosylation est connue pour son rôle en 5 immunologie et il peut donc être intéressant de les modifier tout particulièrement.

Une composition pharmaceutique destinée à vacciner contre une infection à rétrovirus, notamment VIH, ci-dessus peut en outre contenir plusieurs principes actifs tel un 10 peptide muté HEDIISLVDQSLK, et un fragment d'enveloppe préparé par génie génétique et ne comprenant ni la zone de similitude avec Fas ni la zone d'identité avec CD4. Une composition pharmaceutique vaccinale peut être fabriquée de manière conventionnelle. On peut associer un peptide selon 15 l'invention en quantité suffisante pour être efficace d'un point de vue thérapeutique, avec un solvant ou un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique. Par exemple l'immunogénicité d'un peptide ci-dessus peut être conférée par la préparation de protéosomes ou par l'utilisation d'un 20 composé acceptable d'un point de vue pharmaceutique qui a de préférence les propriétés d'un adjuvant (composé lipidique, extraits bactériens...).

Les peptides et protéines natifs ou modifiés définis ci-dessus, ainsi que les compositions pharmaceutiques 25 les renfermant peuvent donc être utilisés à titre de traitement pour créer une immunisation pour lutter contre l'infection par le VIH-1 ou la prévenir. Ils peuvent être administrés à titre curatif ou préventif.

Les peptides immunogènes ont une très faible 30 toxicité ; administrés à la dose de 50 µg à la souris, aucune toxicité n'a été observée.

Une composition ci-dessus peut être administrée par n'importe quelle voie conventionnelle en usage dans le domaine des vaccins, en particulier par voie sous-cutanée, 35 par voie intramusculaire, par voie intraveineuse ou par voie intradermique, par exemple sous forme de suspension injecta-

ble, ou encore par voie orale selon l'application que l'on veut mettre en oeuvre. L'administration peut avoir lieu en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois après une certain intervalle. Le dosage varie en fonction de divers 5 paramètres, par exemple, de l'individu traité ou du mode d'administration. A titre d'exemple, on indique toutefois que, chez des mammifères tel le rat ou la souris ou le singe, on obtient des résultats satisfaisants avec une dose de chacun des peptides des IS N° 1, 2, 3, 4, 5, d'environ 10 à 10 100µg/Kg de poids corporel, de manière avantageuse de 30 à 70 µg/kg de poids corporel, de préférence de 45 à 55 µg/Kg de poids corporel, tant présentés sous forme de protéosomes que couplés à des toxoides ou d'autres protéines porteuses (KLH ou BSA...) ou qu'émulsionnés.

15 Les doses les plus faibles sont avantageusement administrées en présence d'adjuvants et/ou à intervalles répétés tandis que les doses les plus fortes peuvent être administrées une seule fois et/ou en absence d'adjuvant.

20 Ce qui a été dit à propos des sites auto-immuns du VIH-1 s'applique directement au VIH-2. En résumé, pour réaliser une immunisation anti-VIH-2, il est recommandé d'utiliser des protéines de VIH-2 déletées ou modifiées au niveau des sites d'identité avec les protéines CD4 et Fas notamment du site d'identité entre Fas et gp110, CNSTV, 25 précité.

20 Comme les anticorps dirigés contre les sites précités peuvent jouer un rôle toxique, on peut aussi immuniser contre ces anticorps, c'est à dire induire une réaction anti-idiotypique ou encore utiliser des anticorps anti-idiotypiques de manière passive. Ces anticorps seront donc dirigés contre des anticorps eux-mêmes dirigés contre des épitopes comprenant les sites communs avec les protéines immuno-régulatrices.

35 Rappelons que la demanderesse a découvert en effet que des rétrovirus, particulièrement VIH-1 et VIH-2, passent par une phase d'auto-immunité chez l'homme mettant en jeu des

molécules essentielles pour la défense immunitaire de ce malade, notamment ses propres molécules CD4 ou Fas. Il semble que la réponse immunitaire cellulaire dirigée contre ces peptides autologues (CD4, Fas, chaîne légère d'Ig, récepteur aux IgE, récepteur au butyrate, ELAM-1) peut jouer un rôle dans la dérèglement immunitaire observée dans le SIDA. Le malade supprime lui-même, par auto-immunité (auto anticorps, cellules tueuses), son potentiel de défense immunitaire. De ce fait, des anticorps anti-idiotypiques, dirigés contre les auto-anticorps sont donc capables d'annihiler cette suppression des défenses.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet de nouveaux anticorps anti-idiotypiques, caractérisés en ce qu'il sont dirigés contre les anticorps qui reconnaissent eux-mêmes les épitopes notamment SLWDQ, VEINCTRPNNN, VEINCTRTQ, FYCNST, FFCNST, YVGSDLEI, YVGSNLEI, PLTEEA, QGQWTYQ, QGQWTQQ, RSGVETTTPSQK, RAGVETTTPSKQ, EALKYW ou leur dérivés glycosilés dans la molécule native. La préparation de tels peptides et leurs dérivés est décrite ci-après. Parmi les anticorps anti-idiotypiques ci-dessus décrits on retient notamment ceux dirigés contre les anticorps qui sont eux-mêmes dirigés contre les peptides et leurs dérivés ci-dessus comportant 4 à 20, et particulièrement 5 à 12 acides aminés.

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation des anticorps anti-idiotypiques tels que définis ci-dessus caractérisé en ce que l'on isole lesdits anticorps, de préférence chez l'homme immunisé par des anticorps reconnaissant l'un des épitopes décrit ci-dessus, par exemple en transformant les cellules B d'un malade par l'EBV (virus Epstein Barr) et en sélectionnant les clones cellulaires produisant des anticorps dirigés contre les anticorps anti-peptide utilisés comme antigènes dans l'immunisation, pour obtenir les anticorps anti-idiotypiques désirés, que l'on isole ainsi.

Les anticorps anti-idiotypiques objet de la présente invention possèdent de très intéressantes propriétés

pharmacologiques. Ils sont doués notamment de remarquables propriétés de blocage des auto-anticorps contre la molécule immunorégulatrice considérée. Ces anticorps peuvent être injectés, notamment isolés ou couplés à une matrice, ou 5 encore par exemple mis dans un système de relargage tel que des billes qui se dissolvent progressivement.

Ces propriétés justifient l'utilisation des anticorps anti-idiotypiques dirigés contre les anticorps eux-mêmes dirigés contre les peptides et leurs dérivés ci-dessus 10 décrits à titre de médicament.

C'est pourquoi la présente demande a aussi pour objet les médicaments caractérisés en ce qu'ils sont constitués des anticorps anti-idiotypiques tels que définis ci-dessus, c'est à dire lesdits anticorps anti-idiotypiques pour 15 leur utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.

A titre de médicaments les anticorps anti-idiotypiques selon l'invention peuvent être incorporés dans des compositions pharmaceutiques classiques des anticorps, 20 notamment celles destinées à la voie parentérale.

C'est pourquoi l'invention a aussi pour objet les compositions pharmaceutiques qui renferment au moins un anticorps anti-idiotypique précité, à titre de principe actif, c'est à dire un des médicaments ci-dessus définis.

25 Ces compositions pharmaceutiques peuvent être, par exemple, solides ou liquides et se présenter sous les formes pharmaceutiques couramment utilisées en médecine humaine, pour la voie parentérale comme par exemple les poudres lyophilisées, les préparations injectables: elles sont 30 préparées selon les méthodes usuelles. Le ou les principes actifs peuvent y être incorporés à des excipients habituellement employés dans ces compositions pharmaceutiques.

Les auto-anticorps peuvent également être bloqués par des anticorps anti-idiotypiques générés de façon active 35 par l'organisme. On peut immuniser l'individu à l'aide des anticorps ou fragment Fab ou (Fab)', reconnaissant les

épitopes décrits ci-dessus, et ce dernier réagit ainsi en synthétisant des anticorps anti-idiotypiques. Ces anticorps reconnaissant les épitopes précités et utilisés comme agents immunogènes, peuvent être monoclonaux ou polyclonaux ; ils 5 peuvent être homologues (humains) ou hétérologues ; ils peuvent être humanisés si nécessaire, comme tout cela est décrit ci-après. L'immunisation peut-être réalisée de différents façons notamment celles décrites ci-dessus et ci-après. Les auto-anticorps ou leurs parties variables, qui 10 peuvent être préparés notamment selon les techniques classiques du génie génétique ou isolés d'individus malades ou immunisés, par exemple par chromatographie d'affinité, peuvent être utilisés à différentes doses d'immunisation, de préférence allant de 10 µg à 10 mg chez l'homme adulte.

15 Il est clair que si des anticorps jouent un rôle toxique à cause des épitopes auto-immuns qu'ils reconnaissent on peut envisager de leur donner des leurre pour que leurs sites de liaison soient bloqués et qu'ils soient métabolisés. Un leurre consiste en la séquence épitopique elle-même ou un 20 dérivé de cette séquence permettant l'accrochage de l'anticorps. On a donné les séquences des épitopes ci-dessus et l'utilisation de tout dérivé peptidique les contenant (voir ci-après) comme leurre entre dans le cadre de la présente invention. La concentration peptidique utilisée ne doit pas 25 être toxique: In vitro on observe que des concentrations de peptides contenant SLWDQ de l'ordre de 100 microgrammes par millilitre inhibent l'activité des cellules T car ce site correspond à un site majeur pour l'interaction CD4-CMH2 comme on l'a démontré (cf exemple 2 et ci-dessous). Dans le cas de 30 cet épitope il faut donc se placer dans un ordre de concentration effective inférieur à la dose toxique. Les mêmes observations restent valables pour les autres épitopes si ils jouent un rôle fonctionnel.

35 Il semble que les segments glycosylés de la protéine Fas participent comme épitopes cibles à une réaction auto-immune en particulier humorale chez les sujets infectés.

En conséquence on peut utiliser certains sucres pour rentrer en compétition avec l'effet de ces anticorps et bloquer le processus auto-immun anti-Fas. Ces sucres peuvent être par exemple des molécules de glucosamine acétylées (GlucNac) ou 5 des noyaux galactoses simples ou des galactosides ou d'autres sucres appropriés.

Les expériences faites sur l'activation des cellules CD4 en présence de peptides contenant SLWDQ montrent le rôle fonctionnel de ce site. Une inhibition dose-dépendante de l'activation des cellules CD4 s'observe à une concentration de l'ordre de 100 microgrammes par millilitre (voir exemple 2). Cette inhibition s'explique par la compétition exercée par le peptide dans l'interaction CD4-CMH2. Dans la structure tri-dimensionnelle connue de la molécule CD4, le 10 site SLWDQ est caché et cela est confirmé par la difficulté à obtenir des anticorps monoclonaux dirigés contre cet épitope, chez la souris. Le fait qu'il y ait compétition avec des peptides contenant la séquence SLWDQ s'explique alors par un changement conformationnel de la molécule CD4 lors de 15 l'activation induite par l'antigène. Ce changement dégagerait la zone SLWDQ, lui permettant par exemple d'interagir avec le CMH2. De la même façon il est logique de penser que les anticorps reconnaissant l'épitope SLWDQ, présents en grand nombre chez les malades pourront bloquer cette interaction 20 comme le fait le peptide: cela contribue à expliquer l'anergie des cellules T observée lors de la maladie SIDA. De la même façon des anticorps dirigés contre le site commun à Fas et gpl20 pourront induire une mort programmée des cellules CD4. De ce fait, aussi bien les peptides suppressifs 25 contenant SLWDQ que les anticorps dirigés contre cet épitope ou les épitopes Fas sus-cités peuvent être utilisés pour leurs propriétés immuno-suppressives illustrées ci-après dans la partie expérimentale (dans le cas du CD4) qui justifient leur emploi comme médicaments et leur incorporation dans des 30 compositions pharmaceutiques.

En effet, en ce qui concerne les propriétés

immunosuppressives des peptides issus d'une molécule CD4 ci-dessus, ceux-ci, administrés à un mammifère malade entrent en compétition avec les lymphocytes porteurs de CD4, et empêchent la coopération CD4-CMH. En ce qui concerne les anti-corps dirigés contre ces peptides, ceux-ci se fixent sur le segment concerné du CD4 et peuvent bloquer aussi son interaction avec le CMH (pouvant conduire à un état d'anergie), ou sinon par action directe sur le CD4 induire des phénomènes de transduction inhibiteurs (anergie) ou activateurs. De même pour les anticorps anti-Fas dirigés contre les épitopes suscités qui pourront, utilisés de manière transitoire, bloquer l'activation des cellules T en stimulant leur mort prématu-rée. Les peptides et anticorps ci-dessus trouvent de ce fait de remarquables applications pour induire des immunosuppressions. Cela s'applique donc notamment aux cas suivants :  
- l'immunosuppression dans le traitement des maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux systémique ou la polyarthrite rhumatoïde (pour inhiber l'activation T auto-immune), dans le cas des transplantations, notamment d'organes (on sait d'ailleurs que l'anticorps OKT4A est utilisé avec un certain succès dans ce but), dans le cas des leucémies et particulièrement des leucémies T pour bloquer la prolifération cellulaire.

Il est à souligner que le peptide de la gp120 HEDIISLWDQSLKPCFK (IS 46) qui contient une proline conservée au même niveau dans la molécule CD4 (SLWDQGNFP) est l'un des meilleurs inhibiteurs de l'activation des cellules T. Il est donc important de mentionner des peptides contenant cette proline comme le peptide IS 46. On peut associer dans une même molécule des peptides ci-dessus avec d'autres peptides qui renforcent leur action : par exemple, le site CD4-binding de liaison du VIH-1 au récepteur CD4 permettra un meilleur ancrage à la cellule T et ainsi l'action des peptides immunosuppressifs tel HEDIISLWDQSLKPCVK sera renforcée (IS 47). Cette association dans une même molécule peut se faire de multiples façons, par exemple en associant les deux

séquences par une autre séquence telle que (G)<sub>n</sub>, ou en réalisant des structures peptidiques "en candélabres" notamment par des résidus lysine (K)

Les peptides ci-dessus peuvent être utilisés tels 5 quels ou sous forme de dérivés, associés par exemple à des polysaccharides, des peptides, des noyaux. De tels dérivés entrent dans le cadre de la définition des peptides selon l'invention. C'est pourquoi parmi les peptides ci-dessus, on retient notamment ceux comprenant une séquence issue du site 10 de liaison de gp120 avec la molécule CD4, provenant de VIH-1 ou de VIH-2 (résidus 423-450 dans Env VIH-1 LAI) (cf IS8).

Toutes les indications données ci-dessus par référence aux molécules immorégulatrices, notamment le CD4, peptides, anticorps s'appliquent également notamment aux 15 peptides du CMH2 situés dans une zone essentielle pour l'activation des lymphocytes T dans la réponse immunitaire. En effet, en se basant notamment sur les données cristallographiques obtenues pour le CMH1, on a identifié une région du CMH2, chaîne  $\beta$ , qui est exposée spatialement et qui est 20 susceptible d'intervenir dans la liaison avec le CD4. La séquence de cette région est : FLNGQEETAGVVSTN (IS 16).

On a montré expérimentalement que les peptides issus de ce site sont immunosuppressifs (voir exemple 7) comme le sont les peptides CD4 déjà décrits. De la même façon 25 que pour le CD4, on retiendra donc plus particulièrement une séquence présentant une similitude avec la séquence FLNGQEE-TAGVVSTN (IS16) (CMH de classe II : résidus 169-183), la séquence VVSTQLLLNG (IS13) (résidus 254-263 de gp120) ou la séquence VVSTNLIRNG (IS14) (résidus 179-188 du CMH de classe 30 II).

Comme pour le CD4 on pourra aussi obtenir les éléments suivants :

- peptides utilisés tels que ou couplés comme agents immuno-supresseurs ;
- 35 - anticorps reconnaissants l'épitope CMH2 ci-dessus et induisant ainsi un effet d'immunosuppression.

Les antigènes polypeptidiques ci-dessus décrits (peptides, fragments de protéines, protéines) et leurs dérivés, peuvent être préparés selon des méthodes connues en elles-mêmes, par exemple par synthèse chimique classique pour les peptides (on peut pour cela par exemple opérer une synthèse en phase solide à partir d'un support solide aminé et des acides aminés désirés), par purification biochimique appropriée ou génie génétique (systèmes eucaryotes ou procaryotes au choix selon les contraintes biologiques requises telle la glycosylation) pour les fragments de protéines du VIH-1 ou des molécules immuno-régulatrices, ou pour ces protéines elles-mêmes. Par "dérivés renfermant lesdits peptides" l'on entend par exemple les structures protéiques, glycoprotéiques ou peptidiques renfermant ledit peptide, et destinées à optimiser l'utilisation désirée du peptide: par exemple il semble que le peptide multimère SLWDQSLWDQSLWDQSLWDQ donne de meilleures suppressions que le peptide SLWDQ seul.

Par exemple, on peut préparer une composition pharmaceutique en diluant un polypeptide ci-dessus mentionné dans une suspension eau/huile. D'autre part, des protéosomes appropriés sont tels que décrits et obtenus dans Lowell et al, J.Exp.Med., (1988) 167 : 658. Lorsqu'un peptide ci-dessus est associé à des protéosomes, il est de préférence préparé sous forme de conjugué, c'est à dire qu'il est lié par liaison covalente à un groupement hydrophobe tel qu'un radical acide gras, par exemple un radical lauryl ou lauryl-Cys, ou bien il comprend outre la séquence caractérisante, une séquence-pied composée d'acides aminés hydrophobes par exemple le pied Phe-Leu-Leu-Ala-Val-Phe-Cys ; la séquence-pied est de préférence liée par liaison peptidique à l'extrémité NH<sub>2</sub>-terminale de la séquence caractérisante.

Les anticorps, notamment monoclonaux tant homologues (humains) qu'hétérologues, dirigés contre les peptides ci-dessus décrits, ainsi qu'un procédé de préparation desdits anticorps selon lequel l'on prépare, selon des opérations

connues en elles mêmes les anticorps désirés, sont également intéressants.

Ces anticorps peuvent être préparés chez l'homme ou chez l'animal, tel que le singe, la souris, le cheval, le 5 lapin etc....

Les anticorps dirigés contre les peptides et leurs dérivés utilisés pour les immunisations décrites aux paragraphes ci-dessus peuvent être préparés par exemple comme suit:

- 10 - Pour produire des anticorps monoclonaux, on prélève les cellules B d'un individu infecté ou immunisé ou d'un animal immunisé contre le peptide désiré ou contre le composé immunogène, tel qu'une glycoprotéine renfermant ledit peptide, cellules B que l'on transforme avec l'EBV.
- 15 On clone ces cellules individuellement dans des puits en les laissant se multiplier dans un milieu de culture approprié. On teste aussi parmi ces clones ceux qui produisent des anticorps dirigés contre la spécificité du peptide, par exemple par ELISA. De tels anticorps peuvent également être sélectionnés et produits par génie génétique, à partir de librairies génomiques ou d'ADNc.
- 20 - Pour obtenir des anticorps polyclonaux, ceux-ci peuvent être isolés à partir du sérum ou plasma d'animaux immunisés ou infectés. Le peptide considéré est fixé sur une colonne (chromatographie d'affinité) par exemple grâce à ses sites amines ou bien carboxyles. Le sérum est filtré à travers la colonne et les anticorps sériques ainsi adsorbés sont élués par exemple par modification du pH comme utilisation d'un pH acide.
- 25 30 On peut aussi humaniser des anticorps obtenus pour pouvoir les injecter à l'homme sans réaction hétérologue. Par exemple le cDNA d'un anticorps monoclonal de souris dirigé contre le peptide DIISLWDQSLKPCVK peut être cloné, et par génie génétique on peut en récupérer la partie variable contenant le paratope (site de liaison avec l'épitope) et 35 l'associer avec le reste d'une immunoglobuline humaine. Le

tout peut alors être produit dans des systèmes procaryotes ou eucaryotes adéquats pour donner un anticorps humanisé. Cet anticorps pourra être alors utilisé pour une vaccination anti-idiotypique.

5 Les immunisations se font classiquement avec des quantités d'antigènes (que ce soient des peptides, polypeptides, fragments de protéines, protéines incluant les anticorps si on veut obtenir une immunisation anti-idiotypique par exemple) allant de 10 µg à 20 mg mais il est possible de 10 donner de plus fortes ou de plus faibles doses.

On sait qu'en thérapie humaine, les antigènes peuvent être utilisés directement comme immunogène dans des émulsions eau dans huile ou enchaînés au sein d'adjuvants aqueux de phosphate de calcium ou encore adsorbés sur un gel 15 de phosphate d'alumine. Les antigènes peuvent aussi être présentés conjugués à des protéines porteuses, comme le toxoïde tétanique ou encore le KLH. Enfin, les antigènes peuvent également être présentés au sein de bactéries dans 20 des constructions de recombinaison génétique, après l'insertion de séquences nucléotidiques appropriées dans des plasmides.

Une composition pharmaceutique renfermant de tels antigènes est avantageusement destinée à la prévention ou au traitement d'une infection à VIH-1.

25 Enfin, une composition pharmaceutique vaccinale selon l'invention peut être fabriquée de manière conventionnelle. En particulier, on associe un antigène selon l'invention (peptide, polypeptide, fragment de protéine, protéine tels que décrits dans les paragraphes précédents) en quantité 30 suffisante pour être efficace d'un point de vue thérapeutique, avec un solvant ou un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique. Une composition selon l'invention peut être administrée par n'importe quelle voie conventionnelle en usage dans le domaine des vaccins, en particulier par voie 35 sous-cutanée, par voie intramusculaire, par voie intraveineuse ou par voie intradermique, par exemple sous forme de

suspension injectable, ou encore par voie orale selon l'application que l'on veut mettre en oeuvre. L'administration peut avoir lieu en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois après une certain intervalle.

5 Le dosage varie en fonction de divers paramètres, par exemple, de l'individu traité ou du mode d'administration. A titre d'exemple, on indique toutefois que, chez des mammifères immunisés comme des ouris ou des singes, on obtient des résultats satisfaisants avec une dose de chacun  
10 des peptides des IS N°

1, 2, 3, 4, 5, d'environ 10 à 100 µg/Kg de poids corporel, de manière avantageuse de 30 à 70 µg/kg de poids corporel, de préférence de 45 à 55 µg/Kg de poids corporel, tant présentés sous forme de protéosomes que couplés à des toxoides ou  
15 d'autres protéines porteuses (BSA, KLH...) ou qu'émulsionnés.

Les doses les plus faibles sont avantageusement administrées en présence d'adjuvants et/ou à intervalles répétés tandis que les doses les plus fortes peuvent être administrées une seule fois et/ou en absence d'adjuvant.

20 Des immunisations peuvent aussi être réalisées directement par injection d'ADN correspondant aux protéines ou fragments de protéines qui nous intéressent (cf paragraphes précédents) et qui est capté par les cellules et produit localement.

25 De manière générale toute méthodologie aboutissant à la création d'une réponse immunitaire humorale (anticorps) ou cellulaire (cellules effectrices) sera valable.

Les produits ci-dessus sont dotés de remarquables propriétés qui justifient leur utilisation comme médicament.

30 L'usage de ces peptides ou dérivés dans les tests, *in vitro*, notamment de type ELISA pour évaluer l'évolution de la maladie, sachant que de fortes réponses en ELISA face à ces peptides peuvent être corrélées à une forte défaillance de l'immunité. De tels peptides sont notamment DIISLWDQSLK  
35 (IS3) ou TASQK (IS12) qui présentent des réponses extrêmement élevées chez certains malades (voir Exemple 4). Des tests de

diagnostic en découlent.

La présente demande a en résumé comme objets:

- un peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction auto-immune  
5 chez les sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué par

SLWDQ (IS N°1)

SLWDQSLK (IS N°51)

DIISLWDQSLK (IS N°3)

10 HEDIISLWDQSLKPCVK (IS N°46)

VEINCTRR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>N (R<sup>1</sup>=T ou P, R<sup>2</sup>=N ou Q) (IS N°22 et 23)

FR<sup>2</sup>CNST (R<sup>2</sup>=Y ou F) (IS N°24 et 25)

YVGSR<sup>3</sup>LEI (R<sup>3</sup>= D OU N) (IS N°27 et 28)

PLTEEA (IS N°29)

15 QQQWTR<sup>4</sup>Q (R<sup>4</sup>=Y ou Q) (IS N°30 et 31)

RR<sup>5</sup>GVETTPS (R<sup>5</sup>=S ou A) (IS N°48 et 49)

EALKYW (IS N°34)

CNSTV (IS N°26)

EETAGVVSTN (IS N°50)

20 VVSTNNIRNG (IS N°14)

VEINCTR (IS N°37)

INCTR (IS N°52)

et en ce qu'il comporte si désiré du côté N terminal et C terminal de 1 à 5 autres acides aminés en enchaînement  
25 peptidique, ainsi que ses multimères en séquence linéaire comportant de 2 à 6 unités monomères.

- un peptide tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que le monomère d'origine est viral ou provient d'une molécule immunorégulatrice.

30 - un peptide, fragment de protéine ou protéine renfermant un peptide tel que défini ci-dessus caractérisé en ce que ledit peptide est modifié par déletion, addition ou modification d'un ou plusieurs acides aminés pour perdre son caractère d'épitope chez les sujets infectés par VIH-1 ou VIH-2.

35 - un peptide comportant de 5 à 20 acides aminés, caractérisé en ce qu'il est d'origine virale, en ce qu'il est adjacent à

un des peptides définis ci-dessus dans la séquence virale, et en ce que, du côté C terminal ou N terminal, il chevauche 1 ou 2 acides aminés d'un peptide tel que défini ci-dessus.

- un anticorps caractérisé en ce qu'il reconnaît l'un au moins des peptides tels que définis ci-dessus.
- les anticorps antiidiotypiques dirigés contre l'un au moins des anticorps définis ci-dessus.
- Les médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif l'un au moins des peptides définis ci-dessus.
- Les médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif l'un au moins des anticorps définis ci-dessus.
- une méthode de lutte contre le VIH-1 ou 2 par induction d'une tolérance du sujet traité vis-à-vis des peptides définis ci-dessus, caractérisé en ce que l'on administre à un malade
  - soit un peptide défini ci-dessus,
  - soit un fragment de protéine contenant ce peptide
  - soit une protéine entière contenant ce peptide.
- une méthode d'induction de la suppression immunitaire chez un sujet dans laquelle l'on administre un peptide non-modifié ci-dessus comprenant la séquence SLWDQ, la séquence EE-TAGVVSTN ou la séquence VVSTNLIRNG;
- une méthode de vaccination dans laquelle l'on administre, à titre de principe actif immunogène un peptide, fragment de protéine ou protéine modifiée tel que défini ci-dessus ;
- une méthode de vaccination dans laquelle l'on administre, à titre de principe actif immunogène un peptide adjacent tel que défini ci-dessus ;
- une méthode d'induction d'un état d'immuno suppression dans lequel on administre par voie parentérale l'un au moins des anticorps définis ci-dessus ;
- une méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 2 dans laquelle l'on administre sous forme immunogénique l'un au moins des anticorps définis ci-dessus ;

- et enfin une méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 2 dans laquelle l'on administre par voie parentérale l'un au moins des anticorps antiidiotypiques définis ci-dessus.

Les exemples qui suivent illustrent la présente 5 demande sans toutefois la limiter.

EXEMPLE 1

On prépare classiquement du peptide SLWDQ (IS1) et du peptide HEDIISLWDQSLK (IS9) inclus dans des protéosomes. On injecte aux souris par voie intramusculaire 50 $\mu$ g du 10 produit couplé aux jours J0, J30, J60. On prélève le sérum à J70 pour faire des ELISA. Les résultats obtenus sont les suivants en réponse ELISA par rapport à des sérum témoins de souris non immunisées et à des peptides témoins.

Les souris de la série 1 ont été immunisées par 15 SLWDQ (IS1), les souris de la série 2 ont été immunisées par HEDIISLWDQSLK (IS9), les souris de la série 3 sont des témoins non immunisés.

	Peptide	Souris 1	Souris 2	Souris 3
	IS1	+++	+++	-
20	IS10	-	-	-
	IS11	-	-	-
	IS9	+++	+++	-

Les résultats montrent que les peptides IS1 et IS9 sont immunogènes et on a pu obtenir des anticorps contre 25 ces peptides par immunisation chez la souris. L'exemple 4 ci-après montre d'ailleurs l'existence d'anticorps dirigés contre ces peptides chez les malades infectés.

EXEMPLE 2 : Inhibition par des peptides suppresseurs de l'activation des cellules T.

30 - Des cellules mononucléées du sang frais de sujets non infectés (PBMC) ont été isolées par Ficoll-

Hypaque. Les monocytes macrophages ont été ensuite purifiés par adhérence sur plastique. Les cellules adhérentes ont été incubées 6 heures à 37° avec 1µg/ml de SEB (Entérotoxine B de staphylocoque ou de la tuberculine (PPD) Mérieux à 0,02%.

5 Après lavage, ces cellules ont été utilisées comme cellules présentatrices. Des cellules T répondeuses ont été obtenues par sélection immunomagnétique négative : les cellules PBMC ont été incubées avec l'anticorps monoclonal anti-HLA-DR et lavées puis mélangées avec des billes recouvertes par des 10 anticorps anti-(IgG de souris).

Les cellules HLA DR (+) (cellules déjà activées) ont été enlevées avec un aimant pendant 5 mn. Les cellules HLA DR (-) (cellules au repos) ont ainsi pu être récupérées.

- Des cellules autologues présentatrices sont 15 cultivées en mélange avec des cellules répondeuses HLA DR (-) avec différents peptides pendant 5 jours à 37°. Les réponses en prolifération sont mesurées par l'incorporation de thimidine tritiée. Les résultats consignés dans le tableau suivant montrent l'effet inhibiteur des peptides contenant la 20 séquence SLWDQ (IS1). Ces expériences montrent aussi le rôle inhibiteur des peptides issus du site de liaison de la gp120 avec le CD4. Le site de liaison du CD4 avec la gp120 (résidus 40-59 du CD4) pourra lui aussi être inhibiteur.

PEPTIDES (souche LAI)		Prolifération des lymphocytes T	
		PPD	SEB
5	1. <u>HEDIISLWDOSLK</u>	env 105-117	4320 ± 1500 14670 ± 4470
	2. <u>SLWDQ (IS1)</u>	env 110-114	5500 ± 1780 12330 ± 3280
10	3. <u>SLWDQSLKPCVKLTPL</u>	env 110-125	6070 ± 1580 16760 ± 2530
	4. IRIQRGPGRF	env 312-320	12200 ± 2370 27180 ± 5360
	5. KQIINMWQEVGKAMYA	env 429-440	6650 ± 1880 15130 ± 3430
15	6. CRIKQINMWQEVKAMY APPISGQIR	env 423-447	5780 ± 2110 14210 ± 2770
	7. SSGGDPEIVTHSFNC	env 369-383	14180 ± 2300 33360 ± 3460
20	8. gp120		3400 ± 1220 10230 ± 2710
	No peptide		15400 ± 1900 31990 ± 780

25 EXEMPLE 3

On immunise des souris, comme dans l'exemple 1, par le peptide HEDII (IS5) qui est adjacent à SLWDQ (IS1) dans le VIH-1 (séquence 105-109).

On utilise les anticorps de souris dans des expériences d'inhibition décrites à l'exemple 2 : on arrive à diminuer l'effet inhibiteur de la gp120 grâce à ces anticorps.

En effet, au lieu d'une inhibition de 80% en présence de 300 µg de gp120, on voit une inhibition de seulement 50% en présence d'anticorps : ces anticorps diminuent l'effet suppresseur de la gp120.

Prolifération des lymphocytes T		
	PPD	SEB
5		
gp120	3400	10230
10		
gp120 + anticorps	8220	17450
témoin	15400	31900

EXEMPLE 4

Des tests ELISA ont été faits à partir des sera 15 de 14 sujets séronégatifs (contrôle), 14 sujets infectés par le VIH-1 asymptomatiques, 14 sujets atteints de SIDA.

Les Densités optiques (D.O.) obtenues par ELISA ont été rapportées au sérum non dilué. Pour chaque groupe, la moyenne des réponses obtenues pour chaque peptide a été 20 calculée. Le tableau suivant présente les rapports des moyennes obtenues pour les groupes des sujets infectés asymptomatiques ou SIDA sur les moyennes obtenues pour les séronégatifs.

On note les fortes réponses anticorps contre 25 DIISLWDQSLK (IS3) et contre TASQK (IS12) par rapport aux autres peptides.

	PEPTIDES	ASYMPTOMATIQUES	SIDA
5	<b>SSGGDPEIVTHSFNC</b> (Env 365-383 VIH-1 LAI)	2.5	2
	<b>KAKRRVVQREKRAVG</b> (Env 505-519 VIH-1 LAI)	2.4	2.1
10	<b>SLWDQ (IS1)</b> (Env 101-117 VIH-1 LAI)	3.5	3
	<b>DIISLWDQSLK (IS3)</b> (Env 107-117 VIH-1 LAI)	20	11
15	<b>NMWQEVGKAMYA</b> (Env 430-441 VIH-1 LAI)	1.9	1.5
20	<b>TASQK (IS12)</b> (CD4 17-21)	5	4

EXEMPLE 5 : Purification d'anticorps à spécificité anti-SLWDQ (IS1) et leur effet immunosupresseur.

Les sérums des souris immunisées comme décrit à l'exemple 1 par les peptides IS 9 (ou IS10) est incubé avec des billes AFFIGEL 102 (Biorad) à concentration appropriée (par exemple 2 mg de peptide pour 1 mg de gel). On ajoute lors de l'éthanol acétate (agent couplant) et on amène alors le pH à 4,8. On laisse incuber 3 heures à la température ambiante, puis on centrifuge le tout 10 minutes. On rince le gel couplé obtenu en culot avec du PBS + NaN<sub>3</sub> à 0,01 %.

Une fois filtré, on peut éluer les anticorps fixés par du tampon acide citrique 0,1 M pH 3. On neutralise la fraction élue en tampon Tris HCl à pH 9 et on concentre le tout par centrifugation à travers une colonne Centrisart (Seuil = 10 kD).

On vérifie le fort titre en anticorps anti (peptide IS9 ou IS 10) dans la fraction concentrée ainsi recueillie par ELISA.

En réalisant les mêmes expériences d'inhibition que celles décrites dans l'exemple 2 en utilisant ces

anticorps purifiés, on obtient une inhibition significative de la prolifération des lymphocytes T activés par les antigènes SEB ou PPD seulement pour les anticorps sélectionnés sur la colonne IS9 (peptide contenant SLWDQ (IS1)) et non pas sur 5 les anticorps sélectionnés sur la colonne couplée avec le peptide IS10.

Les résultats (% d'inhibition) sont décrits dans le tableau suivant (en fonction de la dilution des anticorps) :

10	DILUTION	1/25	1/50	1/100	1/150	1/200
	Anticorps anti IS 9	100 %	100 %	100 %	80 %	50 %
	Anticorps anti IS 10	40 %	0 %	0 %	0 %	0 %

15 De la même façon on a purifié des anticorps anti-IS1 chez des sujets séronégatifs et des sujets séropositifs, infectés par le VIH-1.

Typiquement, pour un éluat concentré final de volume 1 ml obtenu par filtration de 5 ml de sérum, les 20 résultats d'inhibition (%) en fonction de la dilution de l'anticorps sont les suivants :

25	DILUTION	1/25	1/50	1/100	1/150	1/200
	Anticorps de séropositif	100 %	100 %	100 %	90 %	50 %
	Anticorps de séronégatif	90 %	30 %	0 %	0 %	0 %

On voit donc qu'il existe typiquement beaucoup plus d'anticorps suppressifs chez le sujet infecté que chez le sujet séronégatif.

EXEMPLE 6 : Inhibition de l'effet immunsuppressif des anticorps de patient infecté dirigés contre l'épitope SLWDQ (IS1) par un peptide contenant SLWDQ (IS1).

On réalise une expérience de suppression comme celle décrite dans l'exemple 5 avec des anticorps de sujets séropositifs purifiés sur une colonne couplée avec le peptide IS1 (SLWDQ), ces anticorps étant utilisés dilués au centième. Les résultats d'inhibition obtenus dans une expérience typique, montrent que le peptide (à concentration suffisante) peut neutraliser l'effet de l'anticorps sont donnés dans le tableau ci-après.

Quantité de peptide présent (en $\mu$ g/ml)	10	20	40	60	100
Inhibition obtenue en présence d'anticorps suppressifs au 1/100e et de peptide	100 %	100 %	100 %	50 %	20 %

EXEMPLE 7 : Effet immunsuppressif des peptides CMH de classe II et des anticorps dirigés contre la région IS15.

Dans les mêmes expériences d'inhibition que celles décrites dans l'exemple 2, on obtient les résultats suivants avec des peptides dérivés du CMH de classe II, similaires ou non avec le VIH-1 :

PEPTIDES		Prolifération des lymphocytes T mesurée par l'incorporation de thymidine tritiée	
		PPD	SEB
5	1. RWFLNGQ	HALDP 167-173	12000 26000
10	2. EETAGVVS	HLADP 174-181	5000 10000
	3. VVSTQLLLNG	gp120 254-263	11000 22000
15	4. VVSTNLIRNG	HLA-DP 180-189	12000 23000
	5. FQILVML	HLA-DP 156-163	21000 44000
	Pas de peptide		23000 50000

20 De plus, les anticorps purifiés issus de sujets infectés par le VIH-1 et dirigés contre le peptide IS13 (VVSTQLLLNG), ou issus d'animaux immunisés avec le peptide IS15 (EETAGVVS) et purifiés sur colonne couplée avec ce dernier ont aussi un effet suppresseur comme le montre le 25 tableau suivant (pourcentage d'inhibition de la prolifération des cellules T) :

	1/25	1/50	1/100	1/150	1/200
Anticorps anti-IS13	100 %	90 %	60 %	30 %	0 %
Anticorps anti-IS15	100 %	100 %	100 %	80 %	40 %

30 EXAMPLE 8 : Isolation d'un anticorps monoclonal humain à spécificité DIISLWQSLK.

Des PBLs d'individu infecté par le VIH-1 sont cultivés de manière standard (RPMI, FCS 10%, glutamine et antibiotiques) en présence du peptide DIISLWQSLK ajouté en grande concentration (100 µg/ml). Au bout de quelques jours 35 on ajoute à ces cellules un surnageant contenant de l'EBV qui

sert ainsi à transformer les cellules B présentes. Après quelques jours les cellules vivantes sont clonées dans des micropuits par la méthode des dilutions limites. Après expansion suffisante, les surnageants de ces puits sont 5 testés ELISA pour la production d'anticorps reconnaissants le peptide DIISLWDQSLK (IS3). Les cellules dont le surnageant répond positivement sont clonés et testés à nouveau, après expansion, et donnant lieu ainsi à des lignées produisant des anticorps monoclonaux humains reconnaissant un peptide 10 contenant IS1. Parmi ces anticorps certains sont suppresseurs dans l'expérience d'immunosuppression in vitro.

EXEMPLE 9 : Isolation d'un anticorps monoclonal de souris à effet immunosuppressif, de spécificité IS1.

Une souris est immunisée aux jours 0, 21, 45, 60, 15 avec 50 µg de gp120 dans de l'adjuvant incomplet de Freund. Au 80ème jour, la souris est sacrifiée et les cellules de sa rate sont isolées par dilacération. On procède alors comme indiqué à l'exemple 8 ci-dessus pour isoler des anticorps monoclonaux reconnaissant IS3. Parmi ces anticorps, certains 20 sont immunosuppressifs dans l'essai d'immunosuppression in vitro.

EXEMPLE 10 : Préparation d'anticorps anti-idiotypiques.

On a immunisé des souris avec un anticorps monoclonal suppresseur préparé à l'exemple 9 ci-dessus comme 25 suit : on purifie l'anticorps sur une colonne couplée avec le peptide IS3, on immunise aux jours 0, 21, 45, 60, 90 les souris avec 100 µg d'anticorps purifié ci-dessus dans de l'adjuvant incomplet de Freund. Les souris sont sacrifiées au jour 100. On récupère et filtre leur sérum sur une colonne 30 couplée avec l'anticorps monoclonal utilisé pour l'immunisation. On élue et concentre les anticorps ainsi fixés. On réalise alors des ELISA qui montrent que ces anticorps reconnaissent les fragments Fab de l'anticorps monoclonal

purifiés. Ces anticorps ne reconnaissent pas les fragments Fab purifiés d'anticorps de souris immunisées par la toxine tétanique inactivée.

De plus ces anticorps inhibe l'effet suppresseur 5 de l'anticorps monoclonal utilisé pour l'immunisation comme le montre l'expérience suivante :

En ajoutant ces anticorps anti-idiotypiques en quantité croissante dans le protocole d'immunosuppression de 10 l'exemple 2 ci-dessus réalisé par l'anticorps monoclonal suppressif utilisé pour l'immunisation, on bloque la suppression induite par ce dernier.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Quantité d'anticorps anti-idiotypiques en $\mu$ g/ml	0,1	1	10	100
15 % d'inhibition de la prolifération des cellules T	100 %	100 %	80 %	20 %

EXEMPLE 11 : Composition pharmaceutique.

On a préparé des ampoules injectables à reconstituer renfermant à titre de principe actif :

20 - anticorps monoclonal de l'exemple 9 lyophilisé 2 mg

EXEMPLE 12 : Composition pharmaceutique.

On a préparé des ampoules injectables à reconstituer renfermant à titre de principe actif :

- anticorps monoclonal de l'exemple 10 lyophilisé 1 mg

25 EXEMPLE 13 :

Réponse cellulaire tueuse contre certains peptides chez des malades infectés par le VIH-1.

Des cellules mononucléées du sang de malades

(PBLs) sont cultivées pendant 1 semaine en présence du peptide stimulant : HEDIISLWDQSLK, à la concentration de 10 $\mu$ g/ml dans du milieu RPMI sérum de veau foetal 10% supplémenté avec glutamine, antibiotique et IL2 de manière standard, (cellules effectrices : CE)

Après une semaine, on opère le test d'activité tueuse comme suit. On incube les CE avec des cellules autologues présentant le peptide cible à tester. Les cellules autologues sont préparées comme suit : ce sont des cellules B provenant du même malade et transformées par l'EBV. Ces cellules ont été préalablement incubées pendant une heure avec le peptide à tester (concentration 10 $\mu$ g/ml) pour pouvoir présenter le peptide testé aux cellules effectrices du malade. (ce sont les cellules cibles : CC). Ces cellules sont ensuite incubées avec du  $^{51}\text{Cr}$  pendant une heure, puis lavées.

Pour effectuer le test de lyse 5000 CC sont mélangées pendant quatre heures avec des CE en proportion de 1/30, 1/10, 1/3 et 1/1. La quantité de chrome relarguée dans le surnageant est mesurée dans un compteur gamma et la lyse est calculée comme suit :

Lyse expérimentale (LE) - Lyse spontané (LS)

Lyse totale (LT) - lyse spontanée

LE = taux de chrome obtenu dans le surnageant expérimental

LS = taux de chrome obtenu avec des CC sans CE

LT = taux de chrome obtenu par lyse totale des CC par l'acide chlorhydrique.

Les résultats obtenus montrent que l'épitope SLWDQ (IS<sub>46</sub>) est un épitope cible de la réponse immunitaire chez les sujets infectés par le VIH-1. Il en est de même pour d'autres peptides contenant SLWDQ comme IS 46.

Dans la figure 1 montrant le pourcentage de lyse spécifique en fonction du rapport CE:CC, les peptides testés sont les suivants : P1=IS 6, P2= DWQLS (contrôle négatif), P3=IS 5, P4=IS 35, P5=IS 16, P6=IS 46, P7=IS 1, P8=contrôle positif de vaccine recombinante exprimant l'enveloppe gp160 du virus VIH-1 souche LAI.

Pour les séquences ci-dessous, les numérotations sont faites par rapport à la souche LAI ou bien HXB2 (G. Myers et al 1991).

IS1) Peptide VIH-1 : enveloppe 110-114 (5 acides aminés)

5 IS2) Peptide CD4 : (CD4 65-69) (5 acides aminés)

IS3) Peptide donnant une réponse ELISA très forte chez les sujets infectés par le VIH-1 : enveloppe 107-117 (11 acides aminés)

10 IS4) Peptide adjacent à SLWDQ (IS1) : enveloppe 115-125 (11 acides aminés)

IS5) Peptide VIH-1 : enveloppe 105-109, adjacent à SLWDQ (IS1) (5 acides aminés)

IS6) Peptide homologue à SLWDQ (IS1) où le W a été changé en V (5 acides aminés). Ce peptide perd de son activité inhibitrice dans le test de suppression.

15 IS7) Peptide VIH-1 contenant SLWDQ : enveloppe 105-114 (10 acides aminés).

IS8) Peptide contenant à la fois une partie active de l'enveloppe pour la liaison avec le CD4 (voir exemple 2) et 20 le peptide IS7 suppresseur, séparés par des résidus intermédiaires, par exemple GGG (Enveloppe (426-441) et Enveloppe (105-107) :

KQIINMWQEVGKAMYAGGGHEDIISLWDQSLK

IS9) Peptide VIH-1 : Enveloppe 105-117 (13 acides aminés)

25 HEDIISLWDQSLK

IS10) Peptide homologue à la région adjacente de SLWDQ dans gp120 (résidus 105-109 : peptide IS5 cité ci-dessus) :

HEDLQ

IS11) Peptide situé au voisinage du site SLWDQ (IS1) dans la 30 molécule CD4 (résidus 52-60)

NDRADSRSS

IS12) (CD4 17-21) (5 acides aminés)

IS13) Séquence de haute similitude du VIH-1 avec le CMH de classe II :

35 VVSTQLLLNG (résidus 254-263, env VIH-1)

IS14) Séquence de haute similitude du CMH de classe II .  
Chaine  $\beta$  avec la gp120 de VIH-1 :

    VVSTNLIRNG (résidus 179-188 de HLA-DP)

IS15) Séquence du CMH de classe II (HLA-DP) hautement  
5 suppressive, située dans la région du CMH exposée :

    EETAGVVS (résidus 174-181)

IS16) Séquence du CMH de classe II qui est exposée d'après  
notre modélisation et qui contient des peptides CMH immuno-  
suppressifs :

10       FLNGQEETAGVVSTN (résidus 169-183 de HLADP)

IS17) Peptide issu de CD4 contenant le site SLWDQ (IS1) et  
pour lequel les taux de réponse ELISA sont très élevés chez  
les sujets infectés par rapport au sujets non infectés :

    ADSRRLSLWDQGNFPL (résidus 55 à 69).

15 IS18) Peptide HLA-DP (résidus 193-199) situé au voisinage de  
la région active définie par le peptide IS16 :

    FQILMV

IS19) Peptide HLA-DP (résidus 156-163) situé au voisinage de  
la région active définie par le peptide IS16 :

20       VTDFYPGS

IS20) Peptide HLA-DP (résidus 167-173) situé au voisinage de  
la région active définie par le peptide IS16 :

    RWFLNGQ

IS21) Peptide CD4 (résidus 65-73) situé au voisinage du  
25 peptide SLWDQ (IS1)

    GNFPLIIKNL

IS22 : VEINCTRPN (résidus 297-306 de gp120, de VIH-1  
souche LAI)

IS23 : VEINCTRQN (résidus 99-108 de la protéine Fas).

30 IS24 : FYCNST (résidus 388-393 de VIH-1 gp120, souche LAI)

IS25 : FFCNST (résidus 117-122 de la protéine Fas)

IS26 : CNSTV (résidus 119-123 de la protéine Fas)

IS27 : YVGSDLEI (résidus 355-362 de pol de VIH-1, souche  
LAI)

35 IS28 : YVGSNLEI (résidus 27-34 du récepteur haute affinité,  
aux IgE)

IS29 : PLTEEA (résidus 461-466 de pol de VIH-1, souche LAI)  
IS30 : QQQWWTYQ (résidus 501-507 de pol de VIH-1, souche LAI)  
IS31 : QQQWWTQQ (résidus 350-356 de ELAM-1)  
5 IS32 : RSGVETTTPSQK (résidus 476-487 de Gag, souche LAI)  
IS33 : RAGVETTTPSKQ (résidus 179-190 de la chaîne légère lambda des immunoglobulines)  
IS34 : EALKYW (résidus 796-801 de gp120 de VIH-1, souche LAI)  
10 IS35 : SLKPCVK (résidus 115-121 de gp120 de VIH-1, souche LAI)  
IS36 : HEDIISL (résidus 105-111 de gp120 de VIH-1, souche LAI)  
IS37 : VEINCTR (résidus 99-105 de la protéine Fas)  
15 IS38 : VEIDCSR (peptide IS37 modifié)  
IS39 : FYCDSS (peptide IS24 modifié)  
IS40 : HEDIISLVDQSLK (peptide IS9 modifié)  
IS41 : DIISLWDQDIISLWDQ (résidus 107-114 de gp120 de VIH-1, souche LAI, dimère)  
20 IS42 : DIISLWDQSLKDIISLWDQSLK (peptide IS3 dimérisé)  
IS43 : RADSRRLWWDQRADSRRSLWDQ (peptide 54-64 de CD4, dimère)  
IS44 : SLWDQSLWDQ (peptide IS1 dimérisé)  
IS45 : SLWDQSLWDQSLWDQSLWDQ (peptide IS1, quadrimérisé)  
25 IS46 : HEDIISLWDQSLKPCVK (résidus 105-121, gp120 de VIH-1, souche LAI)  
IS47 : KQIINMWQEVGKAMYAGGHEDIISLWDQSLKPCVK (peptide contenant à la fois une partie active de l'enveloppe pour la liaison avec le CD4 et le peptide IS46 suppresseur)  
30 IS48 : RSGVETTTPS (résidus 476-485 de Gag de VIH-1 souche LAI)  
IS49 : RAGVETTTPS (résidus 179-188 de la chaîne légère lambda des immunoglobulines)  
35 IS50 : EETAGVVSTN (résidus 174-183 de CMHL, DP)  
IS51 : SLWDQSLKP (résidus 110-118 de gp120 VIH-1 souche

41

LAI).

IS52 : INCTR (résidus 101-105 de la protéine Fas, communs avec la protéine gp120 de VIH-1)

## LISTE DE SEQUENCES

## (1) INFORMATION GENERALE:

## (i) DEPOSANT:

5 (A) NOM: ZAGURY JEAN-FRANCOIS  
(B) RUE: 117 RUE VIEILLE DU TEMPLE  
(C) VILLE: PARIS  
(E) PAYS: FRANCE  
(F) CODE POSTAL: 75003

10 (ii) TITRE DE L' INVENTION: Nouveaux peptides, anticorps  
diriges contre ces peptides, moyens de blocage de ces  
anticorps, application a titre de medicaments, compositions  
pharmaceutiques et methodes d'utilisation.

## (iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 51

15

## (iv) FORME LISIBLE PAR ORDINATEUR:

20 (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk  
(B) ORDINATEUR: IBM PC compatible  
(C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS  
(D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.25  
(OEB)

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 1:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

25 (A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple

43

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

Ser Leu Trp Asp Gln

5 1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 2:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 5 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

10 (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

Gly Asn Phe Pro Leu

15 1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 11 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

20 (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys  
1 5 10

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 4:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 11 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu  
1 5 10

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 5 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

His Glu Asp Ile Ile  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 6:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

Ser Leu Val Asp Gln  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 7:

15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

20 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

46

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 8:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 32 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

10 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Lys Ala Met  
Tyr Ala

1 5 10  
15  
15 Gly Gly Gly His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser  
Leu Lys  
20 25 30

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 9:

20 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 13 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys  
1 5 10

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 5 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

His Glu Asp Leu Gln  
1 5

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 9 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

Asn Asp Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 12:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 5 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

Thr Ala Ser Gln Lys  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 13:

15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

49

Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 14:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## 10 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

Val Val Ser Thr Asn Leu Ile Arg Asn Gly --  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 15:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 8 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## 20 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser  
1 5

50

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 16:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 15 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 16:

10 Phe Leu Asn Gly Gln Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser Thr  
Asn  
15 1 5 10  
15

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 17:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 15 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## 20 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 17:

Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Phe Pro  
Leu  
1 5 10

51

15

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 18:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 18:

10 Phe Gln Ile Leu Val Met Leu

1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 19:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 8 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 19:

20 Val Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Ser

1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 20:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 20:

10 Arg Trp Phe Leu Asn Gly Gln  
1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 21:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 21:

20 Gly Asn Phe Pro Leu Ile Ile Lys Asn Leu  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 22:

53

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

5

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 22:

Val	Glu	Ile	Asn	Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn
1				5					10

## 10 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 23:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

15

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 23:

Val	Glu	Ile	Asn	Cys	Thr	Arg	Thr	Gln	Asn
1					5				10

## 20 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 24:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés

54

- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

5 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 24:

Phe Tyr Cys Asn Ser Thr  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 25:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

10

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

15 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 25:

Phe Phe Cys Asn Ser Thr  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 26:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

20

- (A) LONGUEUR: 5 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple

55

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 26:

Cys Asn Ser Thr Val

5 1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 27:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 8 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

10 (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 27:

Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile

15 1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 28:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 8 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

20 (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

56

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 28:

Tyr Val Gly Ser Asn Leu Glu Ile

1 5

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 29:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 29:

Pro Leu Thr Glu Ala Ala

1 5

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 30:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 30:

Gln Gly Gln Trp Thr Tyr Gln  
1 5

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 31:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 31:

Gln Gly Gln Trp Thr Gln Gln  
1 5

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 32:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 12 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 32:

Arg Ser Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 33:

## 5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 12 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## 10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 33:

Arg Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 34:

## 15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## 20 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 34:

59

Glu Ala Leu Lys Tyr Trp  
1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 35:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## 10 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 35:

Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys  
1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 36:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## 20 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 36:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu  
1 5

60

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 37:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- 5 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 37:

Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg

10 1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 38:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- 15 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 38:

Val Glu Ile Asp Cys Ser Arg

20 1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 39:

61

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

5

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 39:

Phe Tyr Cys Asp Ser Ser  
1 5

10 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 40:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 13 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

15

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 40:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Val Asp Gln Ser Leu Lys  
1 5 10

20 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 41:

62

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 16 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

5

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 41:

Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Asp Ile Ile Ser Leu Trp  
Asp Gln  
10 1 5 10  
15

(2) INFORMATION POUR LA SEO ID NO: 42:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 22 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

15

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 42:

20 Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Asp Ile Ile  
Ser Leu  
1 5 10  
15

63

Trp Asp Gln Ser Leu Lys  
20

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 43:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 22 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## 10 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 43:

Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Arg Ala Asp  
Ser Arg  
1 5 10  
15

15 Arg Ser Leu Trp Asp Gln  
20

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 44:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

20 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

64

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 44:

Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Trp Asp Gln  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 45:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 20 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 45:

Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Trp Asp  
Gln Ser  
1 5 10  
15 15

Leu Trp Asp Gln  
20

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 46:

20 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 17 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 46:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro  
Cys Val  
1 5 10  
5 15  
Lys

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 47:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

10 (A) LONGUEUR: 35 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## 15 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 47:

Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Lys Ala Met  
Tyr Ala  
1 5 10  
15  
20 Gly Gly His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu  
Lys Pro  
20 25 30  
Cys Val Lys

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 48:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 48:

10 Arg Ser Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 49:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 49:

20 Arg Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 50:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 50:

10 Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser Thr Asn  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 51:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

15 (A) LONGUEUR: 9 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 51:

20 Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro  
1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 52:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

5 (A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 52:

10 Ile Asn Cys Thr Arg  
1 5

REVENDICATIONS

1. Peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction autoimmune chez les sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué par

5 SLWDQ (IS N°1)

SLWDQSLK (IS N°51)

DIISLWDQSLK (IS N°3)

HEDIISLWDQSLKPCVK (IS N°46)

10 VEINCTRR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>N (R<sup>1</sup>=T ou P, R<sup>2</sup>=N ou Q) (IS N°22 et 23)

FR<sup>2</sup>CNST (R<sup>2</sup>=Y ou F) (IS N°24 et 25)

YVGSR<sup>3</sup>LEI (R<sup>3</sup>= D OU N) (IS N°27 et 28)

PLTEEA (IS N°29)

QQQWTR<sup>4</sup>Q (R<sup>4</sup>=Y ou Q) (IS N°30 et 31)

15 RR<sup>5</sup>GVETTTPS (R<sup>5</sup>=S ou A) (IS N°48 et 49)

EALKYW (IS N°34)

CNSTV (IS N°26)

EETAGVVSTN (IS N°50)

VVSTNNIRNG (IS N°14)

20 VEINCTR (IS N°37)

INCTR (IS N°52)

et en ce qu'il comporte si désiré du côté N terminal et C terminal de 1 à 5 autres acides aminés en enchainement peptidique, ainsi que ses multimères en séquence linéaire comportant de 2 à 6 unités monomères.

2. Peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que le monomère d'origine est viral ou provient d'une molécule immunorégulatrice.

3. Peptide, fragment de protéine ou protéine renfermant un peptide selon la revendication 1 caractérisé en ce que ledit peptide est modifié par déletion, addition ou modification d'un ou plusieurs acides aminés pour perdre son caractère d'épitope chez les sujets infectés par VIH-1 ou VIH-2.

35 4. Peptide comportant de 5 à 20 acides aminés, caractérisé en ce qu'il est d'origine virale, en ce qu'il est

adjacent à un des peptides définis à la revendication 1 dans la séquence virale, et en ce que, du côté C terminal ou N terminal, il chevauche 1 ou 2 acides aminés d'un peptide défini à la revendication 1 ou 2.

5 5. Anticorps caractérisé en ce qu'il reconnaît l'un au moins des peptides tels que définis à l'une des revendications 1 et 2.

6. Anticorps antiidiotypiques dirigés contre l'un au moins des anticorps définis à la revendication 5.

10 7. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif l'un au moins des peptides définis à la revendication 1 ou 2.

8. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif l'un au moins des peptides définis 15 à la revendication 3.

9. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif l'un au moins des peptides définis à la revendication 4.

10. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment 20 à titre de principe actif l'un au moins des anticorps définis à la revendication 5 ou 6.

11. Méthode de lutte contre le VIH-1 ou 2 par induction d'une tolérance du sujet traité vis-à-vis des peptides définis à la revendication 1, caractérisé en ce que 25 l'on administre à un malade

- soit un peptide défini à la revendication 1 ou
- soit un fragment de protéine contenant ce peptide
- soit une protéine entière contenant ce peptide.

12. Méthode d'induction de la suppression immunitaire 30 chez un sujet dans laquelle l'on administre un peptide selon la revendication 1 comprenant la séquence SLWDQ, la séquence EETAGVVSTN ou la séquence VVSTNLIRNG.

13. Méthode de vaccination dans laquelle l'on administre, à titre de principe actif immunogène un peptide, 35 fragment de protéine ou protéine défini à la revendication 3.

14. Méthode de vaccination dans laquelle l'on

administre, à titre de principe actif immunogène un peptide, fragment de protéine ou protéine défini à la revendication 4.

15. Méthode d'induction d'un état d'immuno suppression dans lequel on administre par voie parentérale l'un au 5 moins des anticorps définis à la revendication 5.

16. Méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 2 dans laquelle l'on administre sous forme immunogénique l'un au moins des anticorps définis à la revendication 5.

17. Méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 10 2 dans laquelle l'on administre par voie parentérale l'un au moins des anticorps définis à la revendication 6.

1/1

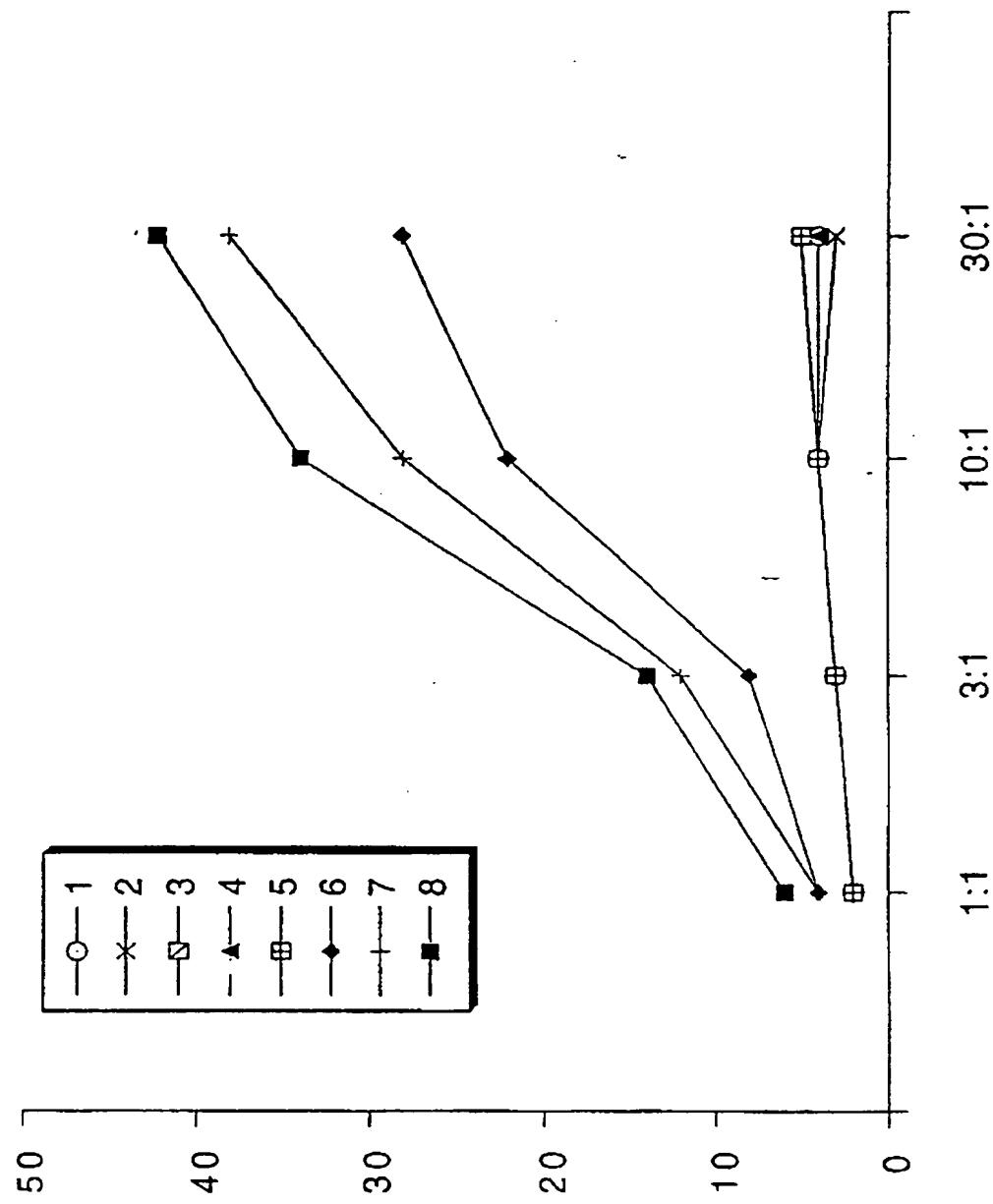


FIGURE 1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No  
PCT/FR 93/00803

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

IPC 5	C07K7/06	C07K7/08	C07K15/06	A61K37/02	A61K39/42
	A61K39/21	C07K15/00			

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 5 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY vol. 72, no. 8, August 1991, COLCHESTER, GRANDE BRETAGNE pages 1913 - 1918 C. ORVELL ET AL. 'Immunological characterization of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase protein by the use of monoclonal antibodies.' see abstract see table 3</p> <p>---</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	1-3,5, 15,16

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*K\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*A\* document member of the same patent family

2

Date of the actual completion of the international search

9 December 1993

Date of mailing of the international search report

19.01.94

## Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentdaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

## Authorized officer

Nooij, F

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No  
PCT/FR 93/00803

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO,A,90 03984 (REPLIGEN CORPORATION) 19 April 1990  see page 8, line 10 - line 12 see page 8, line 31 - line 32 see page 9, line 6 - line 7 see example 22 see claims ---	1-3,5,7, 8,10,11, 13,15,16
X	THE JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION vol. 88, no. 3, September 1991, NEW YORK, ÉTATS-UNIS pages 876 - 884 J. BERZOFSKY ET AL. 'Construction of peptides encompassing multideterminant clusters of human immunodeficiency virus envelope to induce in vitro T cell responses in mice and humans of multiple MHC types.' see abstract see table 1 ---	1-4,7-9, 12-14
X	SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY vol. 35, no. 3, March 1992, OXFORD, GRANDE BRETAGNE pages 267 - 273 M. ZAITSEVA ET AL. 'Antibodies to MHC class II peptides are present in HIV-1-positive sera.' see abstract see table 2 see page 272, right column, line 4 - line 16 ---	1,2,5,6, 15-17
A	EP,A,0 344 006 (ORTHO PHARMACEUTICAL CORPORATION) 29 November 1989  see claims ---	1,2,5-7, 10,11, 15-17
A	WO,A,90 00566 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 25 January 1990 see claims ---	1,3
A	JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE vol. 167, no. 3, 1 March 1988, NEW YORK, ÉTATS-UNIS pages 914 - 923 H. GOLDING ET AL. 'Identification of homologous regions in human immunodeficiency virus 1 gp41 and human MHC class II-beta-1 domain. I. Monoclonal antibodies against the gp41-derived peptide and patients' sera react with native HLA class II antigens,...etc.' see abstract ---	1,2,5
2		-/-

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No  
PCT/FR 93/00803

## C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>BIOMEDICINE AND PHARMACOTHERAPY vol. 47, 1993, PARIS, FRANCE pages 93 - 99</p> <p>J. ZAGURY ET AL. 'HIV-1-induced immune suppression may result from autoimmune disorders including anti-SLWDQ autoantibodies.' see the whole document</p>	1-5,7-16

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 93/06249

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 11-17 are directed to a method of treatment of (diagnostic method practised on) the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest



The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.



No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

**PCT/FR 93/00803**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO-A-9003984	19-04-90	AU-B-	640619	02-09-93
		AU-A-	4403689	01-05-90
		EP-A-	0436634	17-07-91
		JP-T-	4502760	21-05-92
EP-A-0344006	29-11-89	AU-B-	626865	13-08-92
		AU-A-	3526689	30-11-89
		JP-A-	2131497	21-05-90
WO-A-9000566	25-01-90	NONE		

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der : Internationale No  
PCT/FR 93/00803

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE				
CIB 5	C07K7/06	C07K7/08	C07K15/06	A61K37/02
A61K39/21	C07K15/00			A61K39/42

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 5 C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Categorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY vol. 72, no. 8, Août 1991, COLCHESTER, GRANDE BRETAGNE pages 1913 - 1918 C. ÖRVELL ET AL. 'Immunological characterization of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase protein by the use of monoclonal antibodies.' voir abrégé voir tableau 3</p> <p>-----</p> <p>-/-</p>	1-3, 5, 15, 16

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### \* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (elle qui indique)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

2

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée  9 Décembre 1993	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale  19.01.94
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Europeen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé  Nooij, F

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Dex. : Internationale No  
PCT/FR 93/00803

C(uite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Categorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>WO,A,90 03984 (REPLIGEN CORPORATION) 19 Avril 1990</p> <p>voir page 8, ligne 10 - ligne 12 voir page 8, ligne 31 - ligne 32 voir page 9, ligne 6 - ligne 7 voir exemple 22 voir revendications</p> <p>—</p>	1-3,5,7, 8,10,11, 13,15,16
X	<p>THE JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION vol. 88, no. 3 , Septembre 1991 , NEW YORK, ÉTATS-UNIS pages 876 - 884</p> <p>J. BERZOFSKY ET AL. 'Construction of peptides encompassing multideterminant clusters of human immunodeficiency virus envelope to induce in vitro T cell responses in mice and humans of multiple MHC types.'</p> <p>voir abrégé voir tableau 1</p> <p>—</p>	1-4,7-9, 12-14
X	<p>SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY vol. 35, no. 3 , Mars 1992 , OXFORD, GRANDE BRETAGNE pages 267 - 273</p> <p>M. ZAITSEVA ET AL. 'Antibodies to MHC class II peptides are present in HIV-1-positive sera.'</p> <p>voir abrégé voir tableau 2 voir page 272, colonne de droite, ligne 4 - ligne 16</p> <p>—</p>	1,2,5,6, 15-17
A	<p>EP,A,0 344 006 (ORTHO PHARMACEUTICAL CORPORATION) 29 Novembre 1989</p> <p>voir revendications</p> <p>—</p>	1,2,5-7, 10,11, 15-17
A	<p>WO,A,90 00566 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 25 Janvier 1990</p> <p>voir revendications</p> <p>—</p>	1,3
A	<p>JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE vol. 167, no. 3 , 1 Mars 1988 , NEW YORK, ÉTATS-UNIS pages 914 - 923</p> <p>H. GOLDING ET AL. 'Identification of homologous regions in human immunodeficiency virus 1 gp41 and human MHC class II-beta-1 domain. I. Monoclonal antibodies against the gp41-derived peptide and patients' sera react with native HLA class II antigens,...etc.'</p> <p>voir abrégé</p> <p>—</p>	1,2,5
2		-/-

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Doc. Internationale No  
PCT/FR 93/00803

C(ette) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Category	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
P,X	<p>BIOMEDICINE AND PHARMACOTHERAPY      vol. 47 , 1993 , PARIS, FRANCE      pages 93 - 99</p> <p>J. ZAGURY ET AL. 'HIV-1-induced immune suppression may result from autoimmune disorders including anti-SLWDQ autoantibodies.'</p> <p>voir le document en entier</p> <p>-----</p>	1-5,7-16

2

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR93/00803

### Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2(a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1.  Les revendications n°<sup>11-17</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:  
**Bien que les revendications 11-17 concernent une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/ à la composition.**
2.  Les revendications n°<sup>11-17</sup> se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3.  Les revendications n°<sup>11-17</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

### Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

1. l'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1.  Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2.  Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtent ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3.  Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°<sup>11-17</sup>.
4.  Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°<sup>11-17</sup>.

Remarque quant à la réserve

Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant

Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Den : International No  
PCT/FR 93/00803

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO-A-9003984	19-04-90	AU-B- 640619 AU-A- 4403689 EP-A- 0436634 JP-T- 4502760	02-09-93 01-05-90 17-07-91 21-05-92
EP-A-0344006	29-11-89	AU-B- 626865 AU-A- 3526689 JP-A- 2131497	13-08-92 30-11-89 21-05-90
WO-A-9000566	25-01-90	AUCUN	